



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑪ CH 688 504 A5

⑤① Int. Cl.<sup>6</sup>: A 61 K 031/015  
A 61 K 031/22  
A 61 K 031/235

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑳ Gesuchsnummer: 00282/95

㉔ Anmeldungsdatum: 26.03.1997

㉔ Patent erteilt: 31.10.1997

④⑤ Patentschrift  
veröffentlicht: 31.10.1997

㉗ Inhaber:  
Marigen S.A., Hackbergstr. 40, c/o Dr. Eugster,  
4125 Riehen (CH)

㉗ Erfinder:  
Eugster, Carl, Dr., Riehen (CH)  
Haldemann, Walter, Dr., Binningen (CH)

⑤④ Ultramikroemulsionen aus spontan dispergierbaren Konzentraten mit antitumoral wirksamem Taxol und mit Taxol-analogen Verbindungen.

⑤⑦ Spontan dispergierbare Konzentrate mit antitumoral wirksamem Taxol und mit Taxol-analogen Verbindungen, ihre Zusammensetzung und Überführung in wässrige Ultramikroemulsionen, sowie ihre Verwendung als Mittel zur Herstellung eines pharmazeutischen Kombinationspräparates mit erhöhter und gut verträglicher Wirksamkeit gegen Tumore, Psoriasis und Ekzeme werden beschrieben.

Patent Application No. 10/047,902  
Attorney Ref. 6239/1/US  
Application of: Ping Gao, et al.  
Reference No. 1



CH 688 504 A5

EV-639015271 US

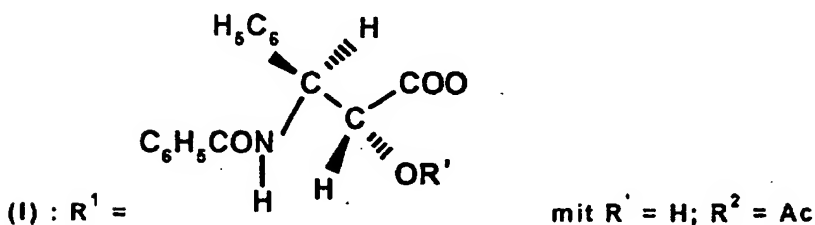
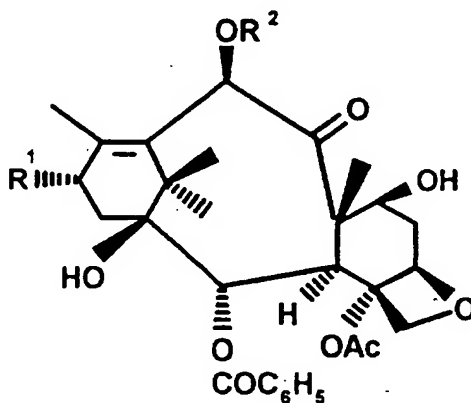
## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft spontan dispergierbare Konzentrate mit schwer löslichem Taxol und anderen schwer löslichen, Taxol-analogen Verbindungen, ihre Zusammensetzung und Überführung in wässrige Ultramikroemulsionen, sowie ihre Verwendung als Mittel zur Herstellung eines pharmazeutischen Kombinationspräparates mit erhöhter und gut verträglicher Wirksamkeit gegen Tumore, Psoriasis und Ekzeme.

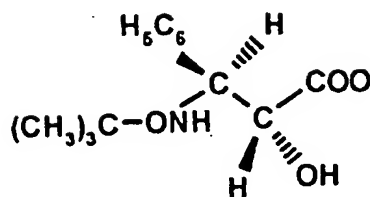
Ausgewählte, in Wasser schwer lösliche Taxol-Verbindungen haben eine sehr starke Wirkung gegen Tumore, Ekzeme und Schuppenflechte, vorab wenn sie in spontan dispergierbare MARIGENOL®-Konzentrate eingearbeitet und dann mit destilliertem Wasser, 5%-iger Glucoselösung oder physiologischer Kochsalzlösung (Ringerlösung) verdünnt worden sind, wobei sich thermodynamisch stabile Ultramikroemulsionen mit globulären Mizellen ausbilden, welche einen hydrodynamischen Radius von 2.2 bis 3.0 nm aufweisen.

## Beschreibung der Erfindung

Das für die Formulierung von erfindungsgemässen Konzentraten ausgewählte Taxol (Paclitaxel) und die Taxol-analogen Verbindungen haben die Formeln (I) bis (XVIII):



TAXOL = PACLITAXEL, Reinsubstanz (isoliert aus Himalayan Yew) von DABUR INDIA Ltd., Harsha Bhawan, Block «E», Connaught Place, New Delhi und 22, Site IV, Sahibabad/Ghaziabad (U. P) India, bezogen.



(II) :  $\text{R}^1 =$  ,  $\text{R}^2 = \text{H}$   
TAXOTÈRE

(III) :  $\text{R}^1 = \text{OH}$  ;  $\text{R}^2 = \text{H}$   
10-DEACETYLBACCATIN-III (DAB)

(IV) :  $\text{R}^1 = \text{OH}$  ;  $\text{R}^2 = \text{Ac}$

BACCATIN-III- und DAB-Reinsubstanz (isoliert aus Himalayan Yew) von DABUR INDIA Ltd., Harsha Bhawan, Block «E», Connaught Place, New Delhi und 22, Site IV, Sahibabad/Ghaziabad (U. P) India, bezogen.

(V) :  $\text{R}^2 = \text{Ac}$ ,  $\text{R}^1$  wie in (I) mit  $\text{R}' =$

$$\begin{array}{c}
 \ominus \quad \oplus \\
 \text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{COO} \quad \text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3 \\
 | \\
 \text{H}
 \end{array}$$

(VI) :  $\text{R}^2 = \text{Ac}$ ,  $\text{R}^1$  wie in (I) mit  $\text{R}' =$

$$\begin{array}{c}
 \ominus \quad \oplus \\
 \text{CO}(\text{CH}_2)_3\text{COO} \quad \text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3 \\
 | \\
 \text{H}
 \end{array}$$

(VII) :  $\text{R}^2 = \text{Ac}$ ,  $\text{R}^1$  wie in (I) mit  $\text{R}' =$

$$\begin{array}{c}
 \ominus \quad \oplus \\
 \text{CO}(\text{CH}_2)_3\text{COO} \quad \text{Na}
 \end{array}$$

(VIII) :  $\text{R}^2 = \text{Ac}$ ,  $\text{R}^1$  wie in (I) mit  $\text{R}' =$

$$\begin{array}{c}
 \oplus \\
 \text{CO}(\text{CH}_2)_3-\text{CONH}(\text{CH}_2)_3-\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{Cl} \\
 | \\
 \text{H}
 \end{array}$$

(IX) :  $\text{R}^2 = \text{Ac}$ ,  $\text{R}^1$  wie in (I) mit  $\text{R}' =$

$$\begin{array}{c}
 \oplus \\
 \text{COCH}_2-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2 \quad \text{CH}_2\text{SO}_3 \\
 | \\
 \text{H}
 \end{array}$$

(X) :  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^1$  wie in (I) mit  $R' = \text{COCH}_2\text{OCH}_2\text{COOH}$

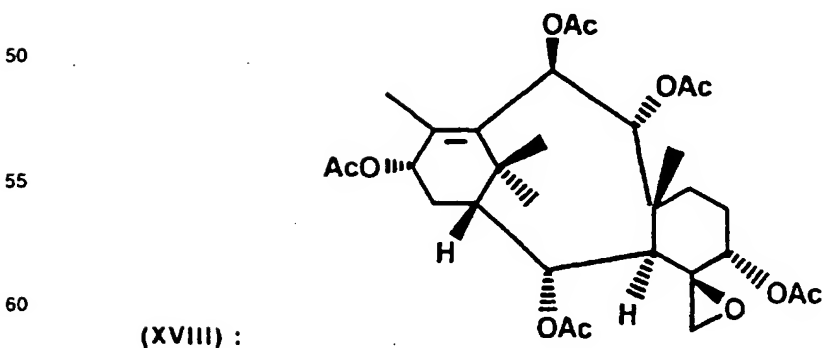
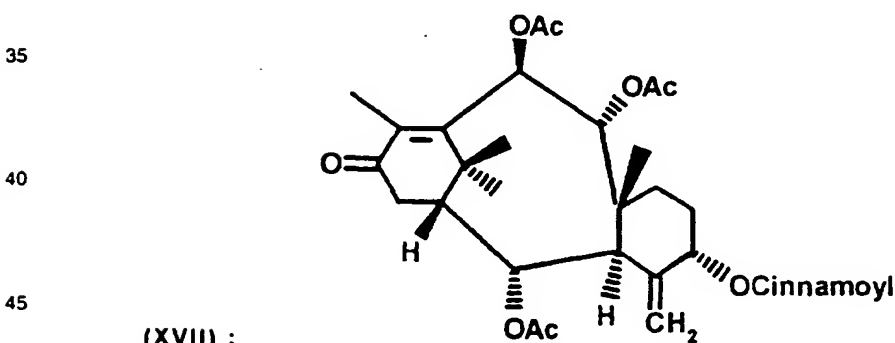
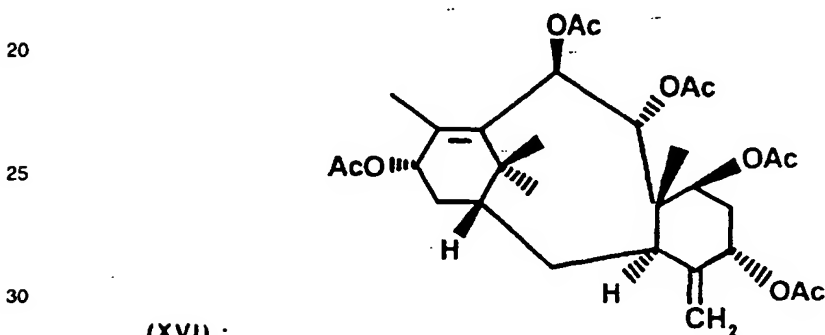
5 (XI) :  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^1$  wie in (I) mit  $R' = \text{COCH}_2\text{SCH}_2\text{COOH}$

(XII) :  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^1$  wie in (I) mit  $R' = \text{COCH}_2\text{SO}_2\text{CH}_2\text{COOH}$

10 (XIII) :  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^1$  wie in (I) mit  $R' = \text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_5$

(XIV) :  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^1$  wie in (I) mit  $R' = \text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{-p-nitrophenyl}$

15 (XV) :  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^1$  wie in (I) mit  $R' = \text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{-p-aminophenyl}$



Weitere Beispiele von Taxol-analogen Verbindungen sind u.a. in folgenden Patentschriften beschrieben:

EP 0569 281 A1 (Priorität 06.05.1992; U.S. 879,661, Bristol-Myers Squibb Co.) WO 94/07878 (Priorität 05.10.1992; PCT/FR 93/00968, Rhône-Poulenc Rorer S.A.

WO 94/07880 (Priorität 05.10.1992; Frankreich, Rhône-Poulenc Rorer S.A.  
WO 94/17051, Florida State University, Process for the preparation of Baccatin-III-Analogues  
(Prioritäten: U.S. 08/010,798, 29.01.93  
U.S. 08/034,852, 22.08.93  
U.S. 08/094,715, 20.07.93)

WO 94/17050, Florida State University, C7-Taxane Derivatives  
(Prioritäten: U.S. 08/010,798, 29.01.93  
U.S. 08/034,852, 22.08.93  
U.S. 08/095,160, 20.07.93)

WO 94/18186, Bryn Mawr College, Synthesis of Taxol, Analogues and Intermediates  
(Priorität: U.S. 08/015,095, 05.02.93)

Taxol sowie die Taxol-analogen Verbindungen der Formeln (I) bis (XVIII) sind nahezu wasserunlösliche und hoch agglomerierte Verbindungen. Damit die Moleküle dieser Verbindungen aber durch die Membranbarriere der Tumorzellen diffundieren und im Innern der Zelle wirksam werden können, müssen derartige Verbindungen vorerst in geeigneter Weise im wässrigen Medium solubilisiert werden.

Es hat sich herausgestellt, dass die antitumorale Wirkung der Verbindungen (I) bis (XVIII) dann stark erhöht ist, wenn sie in erfindungsgemäße, spontan dispergierbare Konzentrate eingearbeitet worden sind. Im Wege der Bildung von thermodynamisch stabilen Öl-in-Wasser Ultramikroemulsionen mittels besonders ausgewählten Cotensiden oder Lösungsvermittlern einerseits und geeigneten Tensiden andererseits gelingt es, einen optimalen Solubilisierungsgrad dieser Verbindungen und eine gute Verträglichkeit zu erzielen. Alle experimentellen Beobachtungen an dergestalt ausgebildeten Ultramikroemulsionen lassen sich einheitlich durch die Annahme deuten, dass die ausgewählten Tenside und Cotenside als ausgewogenes Gesamtsystem genommen in der wässrigen Phase organisierte Aggregate, sog. Mizellen bilden. Diese besitzen mehr oder weniger kugelförmige Gestalt, mit einem hydrodynamischen Radius von 2.2 bis 3.0 nm. Messungen mittels QLS = Quasi-elastic, dynamic light scattering und verbesserter Laser-Detektion wurden durchgeführt an der E.T.H., Zürich, Institut für Polymere (Prof. Dr. Pier Luigi LUISI und Prof. Dr. Peter SCHURTENBERGER).

Die Tenside und Hydrotrope (Cotenside) lassen zwischen der äusseren, wässrigen Phase und der inneren, öligen Phase der Mikroemulsion [enthaltend die Taxol-Verbindungen der Formeln (I) bis (XVIII), gelöst im biotensiden Lösungsvermittler] eine Grenzschicht entstehen, wodurch die Mischung dieser beiden Phasen und das Eindringen von Wasser in die innere Phase unterbleibt. In der öligen, inneren Phase liegen dann die Moleküle der Taxol-Verbindungen in monomerer oder in oligomer agglomerierter Form vor. Die Mizellen der Taxol-haltigen inneren Phase, dem "molecular core" der erfindungsgemäßen Ultramikroemulsionen sind an ihrer Oberfläche, d.h. ihrer Grenzschicht, mit einem Tensidmantel geschützt, was sie instand setzt, leicht durch die Zellmembran ins Innere der Tumorzelle zu diffundieren. Die Diffusion durch die Plasmamembran von Tumorzellen erfolgt ausschliesslich aufgrund thermischer Molekularbewegungen.

Die Richtung, die ein konkreter Diffusionsvorgang einschlägt, wird vom Konzentrationsunterschied bestimmt, welcher an der Plasmamembran zwischen ausserhalb und innerhalb der Tumorzelle besteht. Die Diffusion verläuft solange entlang dem Konzentrationsgefälle, bis es abgebaut ist. Zwischen der extrazellulären Zone und dem Inneren der einzelnen Tumorzelle wird die Konzentration an Wirksubstanz, bzw. am Wirkstoffsystem ("multiple drug system") ausgeglichen, wobei auch verzögerte Abgabeeffekte auftreten können. Derartige Diffusionsvorgänge verlaufen unabhängig von jeglicher Energiezufuhr. Sie haben keinen Bezug auf die zelluläre Stoffwechselenergie. Die Diffusionsgeschwindigkeit gehorcht dem Fick'schen Gesetz für Diffusionsvorgänge in Richtung eines Konzentrationsgefälles. Dabei wird die Stärke des Wirkstofftransportes durch die Membran der Tumorzelle bestimmt:

1. vom Konzentrationsunterschied  $\Delta c$  in den beiden Kompartimenten
2. vom Teilchenradius des diffundierenden Wirkstoffmoleküls oder Wirkstoffsystems
3. von der Viskosität der diffundierenden wässrigen Lösung (Emulsion)
4. von der Temperatur.

Wie aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich ist, hat eine globuläre "Mizelle" mit einem hydrodynamischen Radius von einem Centimeter ein Volumen von 4,189 cm<sup>3</sup> und eine Phasenoberfläche von 12,564 cm<sup>2</sup>.

Demgegenüber weisen 10<sup>18</sup> Mizellen mit einem hydrodynamischen Radius von nur 10<sup>-6</sup> cm (10 nm), welche zusammen das gleiche Volumen von 4,187 cm<sup>3</sup> ausmachen, schon eine Gesamt-Phasenoberfläche von 1256,4 m<sup>2</sup> auf.

## MIZELLEN: VERHÄLTNIS VOLUMEN ZU GESAMTOBERFLÄCHE

	ZAHl der MIZELLEN	Hydrodynamischer RADIUS der Mizellen	VOLUMEN der Mizellen	GESAMTOBER- FLÄCHE der Mizellen
5	1	1 cm	4,187 cm <sup>3</sup>	12,564 cm <sup>2</sup>
	10 <sup>3</sup>	0,1 cm = 1 mm	4,187 cm <sup>3</sup>	125,64 cm <sup>2</sup>
	10 <sup>6</sup>	0,01 cm	4,187 cm <sup>3</sup>	1 256,4 cm <sup>2</sup>
10	10 <sup>9</sup>	0,001 cm	4,187 cm <sup>3</sup>	12 564 cm <sup>2</sup>
	10 <sup>12</sup>	0,0001 cm = 1 µm = 1000 nm	4,187 cm <sup>3</sup>	125 640 cm <sup>2</sup>
	10 <sup>15</sup>	0,00001 cm = 100 nm	4,187 cm <sup>3</sup>	1 256 400 cm <sup>2</sup>
15	10 <sup>18</sup>	10 <sup>-6</sup> cm = 10 nm	4,187 cm <sup>3</sup>	1 256,4 m <sup>2</sup>
	10 <sup>21</sup>	10 <sup>-6</sup> mm = 1 nm	4,187 cm <sup>3</sup>	12 564 m <sup>2</sup>
	Kugelvolumen = $\frac{4}{3} \pi r^3$			
	Kugeloberfläche = $4 \pi r^2$			

20

Fazit: Durch die grosse Phasenoberfläche, welche die Mizellen mit einem hydrodynamischen Radius von 2.2 bis 3 nm in Ultramikroemulsionen ausbilden, wird zusätzlich zu deren gesteigertem Diffusionsvermögen die rheologische Verteilung («spreading») und somit die gezielte Abgabe, d.h. die Bioverfügbarkeit und Bioaktivität der Wirkstoffe, welche in der inneren Phase der Mizellen in monomer oder oligomer agglomerierter Form vorliegen, ebenfalls stark verbessert. Das kann eine beträchtliche Ermässigung der kritischen Dosierung erlauben und damit unerwünschte Nebenwirkungen vermeiden oder wenigstens verringern helfen.

25

Die «Packungsdichte» eines spontan dispergierbaren, stabilen MARIGENOL®-Konzentrates nimmt in exponentieller Funktion mit der kleiner werdenden Teilchengrösse der Mizellen zu. Entscheidend sind die richtige Ausbildung der inneren Phase des Konzentrates, ihr ausgewogenes Verhältnis zum Gesamtkonzentrat und die Auswahl der je dazu passenden Tenside.

30

Die erfindungsgemäss spontan dispergierbaren Konzentrate vereinigen in sich als wesentliche Bestandteile:

35

0,5 bis 5 Gew.-% von Taxol oder einer Taxol-analogen Verbindung der Formeln (I) bis (XVIII), bzw. Kombinationen solcher Wirkstoffe, sowie

5 bis 25 Gew.-% eines als Hydrotrop, bzw. Coemulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches,

5 bis 90 Gew.-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches.

Sie können überdies enthalten:

40

0 bis 10 Gew.-% eines Vitamins oder Provitamins,

0 bis 10 Gew.-% eines Stabilisators, Radikalfängers oder Penetrationsverbesserers («penetration or flux enhancer»).

Die erfindungsgemäss anwendbaren Öl-in-Wasser Ultramikroemulsionen enthalten:

45

0,01 bis 5 Gew.-% eines spontan dispergierbaren Konzentrates wie oben beschrieben,

85 bis 99,99 Gew.-% destilliertes Wasser, 5%-ige Glucoselösung oder physiologische Kochsalzlösung (Ringerlösung),

0 bis 10 Gew.-% pharmazeutische Träger- oder Zusatzstoffe und/oder Hilfsmittel.

Die erfindungsgemäss einzusetzenden Tenside oder Tensidgemische können anionaktiv, kationaktiv, amphoter oder nicht-ionogen sein. Bevorzugt sind sie amphoter oder nicht-ionogen und haben ein HLB-Verhältnis (d.h. eine «hydrophilic-lipophilic balance») zwischen 2 und 18; vorzugsweise liegt es für Gemische zwischen 2 bis 6 einerseits und 10 bis 15 andererseits. HLB-Werte geben Auskunft über die hydrophilen und lipophilen Eigenschaften eines Emulgators. Vgl. dazu «Hydrophile-Lipophile Balance: History and recent Developments» von Paul Becher im Journal of Dispersion Science and Technology 5 (1), 81-96 (1984).

55

Geeignete anionische Tenside können sowohl sog. wasserlösliche Seifen, als auch wasserlösliche synthetische Verbindungen sein. Als Seifen eignen sich die Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierten Ammoniumsalze von höheren Fettsäuren (C<sub>10-22</sub>), wie z.B. die natürlichen Na- oder K-Salze der Öl- oder Stearinsäure, oder von natürlichen Fettsäuregemischen, die sich u.a. aus Kokosnuss- oder Talgöl gewinnen lassen. Ferner sind als Tenside auch die Fettsäure-Methyltaurinsalze, sowie modifizierte und nicht-modifizierte Phospholipide zu erwähnen.

60

Häufiger werden jedoch sogenannte synthetische Tenside verwendet, insbesondere Fettsulfonate, Fettsulfate, sulfonierte Benzimidazol-Derivate oder Alkylarylsulfonate.

Die Fettsulfonate und -sulfate liegen in der Regel als Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierte Ammoniumsalze vor und weisen im allgemeinen einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen auf, wobei Alkyl auch den Alkylteil von Acylresten einschliesst. Beispiele hierfür sind das Na- oder Ca-Salz der Li-

65

gninsulfosäure, des Dodecylschwefelsäureesters und Sulfonsäuren von Fettalkohol-Ethylenoxyd-Addukten. Die sulfonierten Benzimidazol-Derivate enthalten vorzugsweise zwei Sulfonsäuregruppen und einen Fettsäurerest mit etwa 8 bis 22 C-Atomen. Alkylaryl-Sulfonate sind z.B. die Na-, Ca- oder Triethanolaminsalze (TEA) der Dodecylbenzolsulfonsäure, der Dibutyl-naphthalinsulfonsäure oder eines Naphthalinsulfonsäure-Formaldehyd-Kondensationsproduktes.

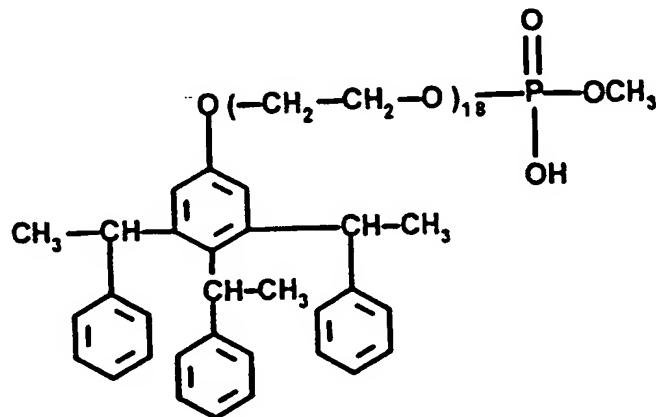
Als nichtionische Tenside stehen in erster Linie zur Wahl die Polyglykoletherderivate von aliphatischen oder cycloaliphatischen Alkoholen, gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren und Alkylphenolen, welche 3 bis 30 Glykolethergruppen und 8 bis 20 C-Atome im (aliphatischen) Kohlenwasserstoffrest und 6 bis 18 C-Atome im Alkylrest enthalten können. Weiterhin kommen als nichtionische Tenside in Frage die wasserlöslichen, 20 bis 250 Ethylenglykolethergruppen und 10 bis 100 Propylenethergruppen enthaltenden Polyethylenoxydaddukte an Polypropylenglykol und Alkylpolypropylenglykol mit 1 bis 10 C-Atomen in der Alkylkette. Die genannten Verbindungen enthalten üblicherweise pro Propylenglykoleinheit 1 bis 5 Ethylenglykoleinheiten.

Als Beispiele nicht-ionischer Tenside seien erwähnt:

Nonylphenolpolyethoxyethanole, Ricinusölpolyglykolether, Polypropylenpolyethylenoxyd-Addukte, Tri-n-butylphenoxypolyethoxyethanol, Polyethylenglykol (PEG) und Octylphenoxypolyethoxyethanol. Überdies kommen auch Fettsäureester von Polyoxyethylensorbitan, wie das Polyoxyethylen-(20)-sorbitan-Monolaurat (=TWEEN®-20), bzw. das Polyoxyethylen-(20)-sorbitan-Monooleat (=TWEEN®-80), bzw. das Polyoxyethylen-(20)-sorbitan-Triolet, in Betracht.

Bei den kationischen Tensiden handelt es sich vor allem um quaternäre Ammoniumsalze, welche als N-Substituenten mindestens einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen enthalten und als weitere Substituenten niedrige, gegebenenfalls halogenierte Alkyl-, Benzyl- oder niedrige Hydroxyalkylreste aufweisen. Die Salze liegen vorab als Halogenide, Methylsulfate oder Ethylsulfate vor, z.B. das Stearyltrimethylammoniumchlorid oder das Benzyl-di(2-chlorethyl)ethylammoniumbromid.

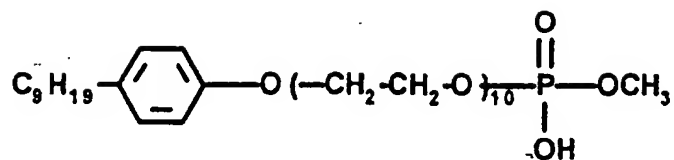
In hohem Masse bevorzugt zur Herstellung von erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentraten sind einerseits Phosphorsäureester-Tenside, wie z.B.: Tristyrylphenolpolyoxyethylen-18-phosphorsäureester-TEA-Salz (das Triethanolamin-Salz)



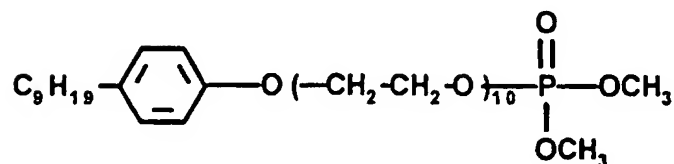
(Soprophor® FL, RHÔNE-POULENC);

Diphazol® 3873 (CIBA-GEIGY), bzw. das identische Sermul® EA 188 (SERVO), ein Mischemulgator, bestehend aus je 50% der beiden Verbindungen mit den Formeln:

5



10



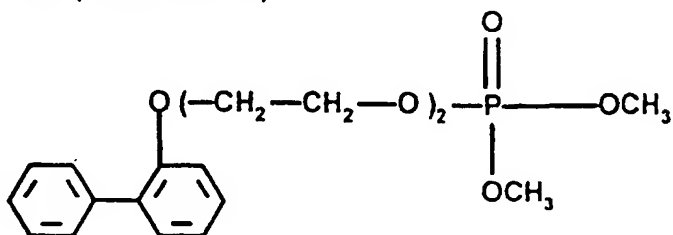
15

20

Diphasol® 3873 (CIBA-GEIGY), ein Alkylphenol Polyglycolether-Phosphat-Tensid

### Tensid 508 (CIBA-GEIGY)

25



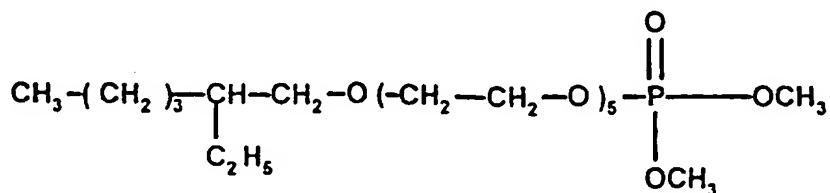
30

(Tensid 508, CIBA-GEIGY);

35

Tinovetin® JU (CIBA-GEIGY), ein Hydroxybiphenyl-10-ethoxy-phosphorsäureester  
Butyl-mono-4-ethoxy-phosphorsäureester (Zerostat® AT, CIBA-GEIGY), bzw.

40



45

50

(Zerostat® AN, CIBA-GEIGY)

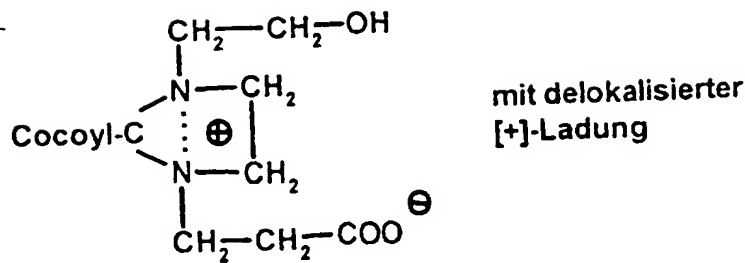
und andererseits Betainverbindungen, d.h. amphotere, salz- und wasserfreie Imidazolderivate, wie z.B. das mittels Vakuumdestillation hochgereinigte Tensid Amphonyl CA-AA, vertrieben durch die Oranienburger Chemikalien AG., Frankfurt a.M. (entwickelt von der Firma Chemisches Forschungsinstitut Schäfer AG, CH-4416, Bubendorf):

55

60

65





Amphotyl CA-AA (CHEMAG).

15 Verwendung finden auch sog. «Polysorbate»-Verbindungen gemäss der CTFA-Classification, wie z.B. «TWEEN®» 20-80 von Atlas Chemical, bzw. ICI Speciality Chemicals, sowie sog. «multifunctional glucose derivatives», wie z.B. Glucate® SS (Methyl-Glucose-Sesquistearat) und Glucamate® SSE-20 (PEG-20 Methyl-Glucose-Sesquistearat) von Amerchol, Edison, N.J.

20 Als Hydrotrop, bzw. als Coemulgator dienende, pharmaverträgliche Lösungsmittel lassen sich einsetzen, z.B.:

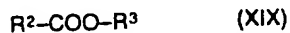
25 Ester eines aliphatischen Alkohols (C<sub>3-18</sub>) mit einer aliphatischen Carbonsäure (C<sub>10-22</sub>), wie etwa Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat und Laurylmyristat; Kohlenwasserstoffe mit einer geraden Kohlenstoffkette (C<sub>12-32</sub>), welche mit 6 bis 16 Methylgruppen substituiert ist und 1 bis 6 Doppelbindungen aufweisen kann, wofür Terpene wie Polymethylbutane und Polymethylbutene als Beispiele dienen mögen. Mono-Ester aus Ethylenglykol oder Propylenglykol mit einer aliphatischen Carbonsäure (C<sub>6-22</sub>), wie etwa Propylenglykolmonolaurat und Propylenglykolmonomyristat.

30 Ester aus einem aliphatischen Alkohol (C<sub>12-22</sub>) mit Milchsäure, wie z.B. Myristyl- oder vorzugsweise Lauryl-Lactat; Mono-, Di- oder Triester des Glycerins mit einer aliphatischen Carbonsäure (C<sub>6-22</sub>), wie z.B. Glyceryl-Caprylat, oder Miglyol® 812 Neutralöl (Oleum neutrale).

35 Ester aus einem Poly(2-7)ethylenglykolglyzerinether mit mindestens einer freien Hydroxylgruppe mit einer aliphatischen Carbonsäure (C<sub>6-22</sub>), wie z.B. aliphatische Alkohole (C<sub>6-22</sub>), somit u.a. Dodecanol, Tetradecanol, Oleylalkohol, 2-Hexyldecanol und 2-Octyldecanol.

Ester mit mindestens einer freien Hydroxylgruppe, aus Poly-(2-10)glykol mit einer aliphatischen Carbonsäure (C<sub>6-22</sub>), Monoether aus einem Polyethylenglykol mit einem aliphatischen Alkohol (C<sub>12-18</sub>), wie z.B. Polyoxyethylten (C<sub>10</sub>)-octylether.

40 Heterocyclische Verbindungen, wie z.B. 1-Methyl-2-Pyrrolidon. Biotenside Terpinylester der allgemeinen Formel (XIX):



worin R<sup>2</sup> eine C<sub>2-31</sub>-Alkyl, bzw. eine C<sub>3-31</sub>-Alkenyl- oder Alkapolylengruppe ist und R<sup>3</sup> Citronellyl-, Farnesyl-, Geranyl-, Isophityl- oder Phityl- bedeutet.

45 Alle technischen Tenside wurden vor dem Eintrag in die spontan dispergierbaren Konzentrate mittels Filtration, bzw. Chromatographie über neutralem Aluminiumoxyd mit einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Tetrahydrofuran, Ethylalkohol oder Methylenchlorid gereinigt.

50 Als Zusätze in die erfindungsgemässen spontan dispergierbaren Konzentrate eignen sich Vitamine und Provitamine (wie z.B. Vitamin A-Säure, Retinol, Tocopherole und deren Ester), sowie auch ausgewählte Penetrationsverbesserer und Radikalfänger.

ZUSAMMENSETZUNGSBEISPIELE von erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren KONZENTRATEN, welche die Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII) enthalten und welche, wenn sie mit Wasser, 5%-iger Glucoselösung oder physiologischer Kochsalzlösung (Ringerlösung) verdünnt werden, thermodynamisch stabile ULTRAMIKROEMULSIONEN ausbilden, die Mizellen mit einem hydrodynamischen Radius von 2.2 bis 3.0 nm aufweisen.

a) 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),

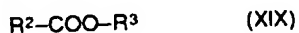
55 5 bis 25 Gew.-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Neutralöl, wie z.B. Miglyol® 812 (Dynamit Nobel),

0 bis 45 Gew.-% eines Phosphorsäureester-Tensides, wie z.B. Diphasol® 3873 (CIBA-GEIGY), Tensid 508® (CIBA-GEIGY), Zerostat® AN oder AT (CIBA-GEIGY), Tinovelin® JU (CIBA-GEIGY), Soprophor® FL (RHÔNE-POULENC),

60 5 bis 90 Gew.-% Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY) und/oder TWEEN®-20 (ICI Speciality Chemicals).

b) 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),

9,5 bis 25 Gew.-% eines oder mehrerer biotensider Terpinylester der allgemeinen Formel (XIX):



worin R<sup>2</sup> eine C<sub>2-31</sub>-Alkyl, bzw. eine C<sub>3-31</sub>-Alkenyl- oder Alkapolyengruppe ist und R<sup>3</sup> Citronellyl-, Farnesyl-, Geranyl-, Isophityl- oder Phityl- bedeutet,  
30 bis 45 Gew.-% Invadin® JFC 800% und/oder TWEEN®-20, bzw. TWEEN®-80 und/oder Glucamate® SSE-20 (AMERCHOL),

5 30 bis 45 Gew.-% Soprophor® FL.

c) 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),

5 bis 25 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol,

0 bis 5 Gew.-% DMSO getrocknet,

bis zu 40 Gew.-% TWEEN®-20 oder TWEEN®-80 und/oder Glucamate® SSE-20,

10 bis zu 60 Gew.-% Soprophor® FL.

d) 1 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),

10 bis 25 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol,

25 Gew.-% TWEEN®-20 und/oder TWEEN®-80,

0 bis 15 Gew.-% Invadin® JFC 800%,

15 bis zu 50 Gew.-% Soprophor® FL.

e) 0,5 bis 4 Gew.-% des Wirkstoffes laut Formel (I),

3 bis 12 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol und/oder DMSO getrocknet,

16 Gew.-% Citronellyl-10-Undecenoat (C<sub>11:1</sub>-Citronellylester) oder Citronellyl-Laurat (C<sub>12:0</sub>-Citronellylester),

20 34 bis 40 Gew.-% Invadin® JFC 800%,

34 bis 40 Gew.-% Soprophor® FL.

N.B.: INVADIN® JFC 800% (CIBA-GEIGY) ist ein wasserfreier tert. Octylphenylpolyoxyethylen Ether mit 9 bis 10 Oxyethylen Gruppen.

25 TWEEN®-20 (ICI Speciality Chemicals) ist die Handels-Bezeichnung für das Polyoxyethylen-(20)-sorbitan Monolaurat, TWEEN®-80 für das Polyoxyethylen-(20)-sorbitan Monooleat. CTFA Classification als Polysorbate 20, bzw. 80, [Merck-Index 11.7559]. Glucamate® SSE-20 (AMERCHOL) ist die Handelsbezeichnung für das Polyethylenglykol-20 Methyl Glucose Sesquisteat gemäss CTFA Classification.

BEISPIEL für die pharmazeutische Herstellung eines Systempräparates mit erfindungsgemässen Konzentraten in der Form von «multiple units».

30

#### a) Granulierung

Metolose® 90 SH-4000 (Shin-Etsu Chemical)	90.0 g
Avicel® PH-101	80.3 g
Erfindungsgemässes KONZENTRAT	139.4 g
Aerosil® 200	80.3 g
Σ	390.0 g

40

Granulieren/formen im Schnellmixer oder im Rotationsbett unter Zusatz von 110 g Ethanol, brechen, sieben 18 bis 42 mesh, trocknen 24 h bei 40°C.

b) MSR- und RETARD-Ausrüstung im Rotationsbett mit AQOAT® AS-HG (Shin-Etsu Chemical) und Talk

45

#### c) Zusammensetzung fertiges Granulat/bzw. Micropellets

Kernmaterial	44%
Erfindungsgemässes-KONZENTRAT	25%
MSR-Beschichtung	31%
Σ	100%

50

55 N.B.: MSR = Magensaft-Resistenz. Die Pellets/Granulate gemäss a) können auch ohne Befilmung unmittelbar in Kapseln abgefüllt werden, welche aus AQOAT® (HPMC-AS-M oder HPMC-AS-N) hergestellt sind, mit Aceton/Ethanol 1:1 verschlossen werden und so die Funktionen der MSR und der verzögerten Abgabe (Slow-Release, Retard) angemessen steuern.

60 Biologische Prüfungen

Die antitumorale Wirkung von spontan dispergierbaren Konzentraten mit Wirkstoffen gemäss den Herstellungsbeispielen a) bis c), sowie den Aufarbeitungsbeispielen a) bis e) wird anhand folgender Prüfungsergebnisse bestätigt:

65

## 1. In vitro-Tests mit geeigneten Tumorzell-Linien

Es wurde ein biologisches Assay-System entwickelt, das mit Mikrotiterplatten und Verdünnungsreihen arbeitet. Angesetzt werden je  $10^4$ /ml Tumorzellen in Kulturmedium RPMI 1640 mit 10% fötalem Kalbserum inaktiviert (GIBCO); sie werden so undicht ausgesät, dass sie während des Assays wachsen können, in nichtkonfluenten Monolayers. Die Probenzugabe erfolgt nach 6 bis 24 Stunden, mit 100 µl pro Reihe, die man im 1. Loch mit 100 µl Medium versetzt. Davon wird die Hälfte entnommen und in das folgende Loch eingebracht, wieder mit 100 µl Medium versetzt, usw. Es entsteht eine geometrische Verdünnungsreihe  $n\frac{1}{2}$ .

Die Proben werden im Plaque Assay während 3 bis 5 Tagen bei 37°C mit 3½% CO<sub>2</sub> inkubiert. Anschließend färben/fixieren mit 0,1% Kristallviolett (Fluka, Buchs) in einer Lösung von 70% Methanol, 1% Formaldehyd, 29% Wasser. Die Auswertung wird am Mikroskop vorgenommen, Vergrößerung 300-fach. Man bestimmt die grösste cytotoxische Verdünnung. Die quantitative Auswertung lässt sich auch mittels Scanning und Absorptionsmessung am Spektrophotometer vornehmen.

## 2. Prüfung auf Zelltoxizität

2.1 Zelltoxizität der MARIGENOL®-KONZENTRATE  
geprüft an Py6-Zellen (Virus infizierten 3T3 Maus-Fibroblasten)

SUBSTANZ	PRÄPARATE IM TEST	EXPOSITION 48 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 120 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:
2% TAXOL-W.S.	MIKROEMULSION 1:1000 AKTIBSUBST.	160 000 8 Mio.	320 000 16 Mio.
2% TAXOL-W.S.	ME 1:500 AKTIVSUBST.	20 000 1 Mio.	320 000 16 Mio.
5% ZEAXANTHIN-di- Undecenoat	ME 1:1000 AKTIVSUBST.	40 000 800 000	160 000 3,2 Mio.
5% ZEAXANTHIN-di- Palmitat (PHYSALIEN)	ME 1:500 AKTIVSUBST.	20 000 400 000	160 000 3,2 Mio.
5% C <sub>11:1</sub> -AZA- FRINYL ESTER	ME 1:500 AKTIVSUBST.	40 000 800 000	160 000 3,2 Mio.
5% VITAMIN D <sub>3</sub> -10- UNDECENOAT	ME 1:500 AKTIVSUBST.	80 000 1,6 Mio.	320 000 6,4 Mio.
Verdünnungen: Erste Zeile auf Konzentrat berechnet Zweite Zeile auf Aktivsubstanz-Gehalt berechnet			

N.B.: TAXOL- und BACCATIN-III-Reinsubstanz (isoliert aus Himalayan Yew) beigestellt von DABUR INDIA Ltd., 22, Site IV, SAHIBABAD/GHAZIABAD, U.P., INDIA. (Dr. P.S. Srinivasan). 31. Mai 1994 und 1. Juni 1995.

2.2 Versuchswiederholung auf Py6-Zellen mit den gleich wie unter 2.1 zusammengesetzten MARIGENOL®-Konzentraten aber mit verschiedenen Expositionszeiten.

5	SUBSTANZ KONZENTRAT	PRÄPARATE IM TEST	EXPOSITION 24 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 72 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:
	2% TAXOL-W.S.	MIKROEMULSION 1:1000	40 000	160 000
10		AKTIVSUBST.	2 Mio.	8 Mio.
	2% TAXOL-W.S.	ME 1:500	80 000	1 280 000
		AKTIVSUBST.	4 Mio.	64 Mio.
15	5% VITAMIN D <sub>3</sub> -a.t.-RETINAT	ME 1:500	10 000	640 000
		AKTIVSUBST.	200 000	12,8 Mio.
	5% VITAMIN D <sub>3</sub> -10-UNDECENOAT	ME 1:500	40 000	160 000
		AKTIVSUBST.	800 000	3,2 Mio.
20	Verdünnungen: Erste Zeile auf Konzentrat berechnet Zweite Zeile auf Aktivsubstanz-Gehalt berechnet 22. Juni 1994			

### 2.3 Vergleichspräparate mit besserer Zugänglichkeit

25 Prüfung an Py6-Virus transformierten Mausfibroblasten

30	SUBSTANZ	PRÄPARATE IM TEST	EXPOSITION 24 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 72 h In Verdünnung wirksam bis zu 1:
	5% ZEAXANTHIN-di- Undecenoat	ME 1:1000	20 000	320 000
		AKTIVSUBST.	400 000	6,4 Mio.
35	5% PHYSALIEN	ME 1:500	10 000	80 000
		AKTIVSUBST.	200 000	1,6 Mio.
	2% C <sub>11,1</sub> -8'- APOCAROTIN ESTER (Undecenoat)	ME 1:1000		640 000
		AKTIVSUBST.		32 Mio.
40	1% C <sub>12,0</sub> -8'- APOCAROTIN ESTER (Laurat)	ME 1:100		512 000
		AKTIVSUBST.		51,2 Mio.
45	1% C <sub>18,0</sub> -8'- APOCAROTIN ESTER (Stearat)	ME 1:100		128 000
		AKTIVSUBST.		12,8 Mio.
	1% C <sub>18,1</sub> -8'- APOCAROTIN ESTER (Oleat)	ME 1:500		160 000
		AKTIVSUBST.		16 Mio.
50	1% C <sub>11,1</sub> - AZAFRINYL ESTER	ME 1:100		256 000
		AKTIVSUBST.		25,6 Mio.
55	1% ISOZEAXANTHIN- di-10-UNDECENOAT	ME 1:100		256 000
		AKTIVSUBST.		25,6 Mio.
	Exposition: 72 h			

60

65

### 3.0 Vergleich des Einflusses der TAXOL-FORMULIERUNG auf die Bioverfügbarkeit und die spezifische Wirksamkeit:

A. Konzentrate hergestellt mit IPM als Coemulgator und mit Cremophor® EL (BASF) als Tensid (Aber kein Alkohol!)

B. Konzentrate hergestellt mit C<sub>11:1</sub>-β-CITRONELLYL-ESTER (MARIGEN) und mit je 50% Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY) und 50% Soprophor® FL (RHONE-POULENC) als Tensidmischung  
Wässrige MAKRO-, bzw. ULTRAMIKROEMULSIONEN im Verhältnis 1:1000, hergestellt aus den jeweiligen Konzentraten

Prüfung der Zelltoxizität mit Py6-Zellen (Polyoma-Virus transformierten 3T3-Mausfibroblasten)

PRÄPARATE KONZENTRATE mit	EXPOSITION 48 h zelltoxisch bis 1:	EXPOSITION 96 h zelltoxisch bis 1:
A 2% TAXOL-W.S.	320 000	640 000
B	640 000	1 280 000
A 2.5% VITAMIN A	40 000	40 000
B ALKOHOL (RETINOL)	1 280 000	1 280 000
A 2.5% VITAMIN A	20 000	20 000
B SÄURE (TRETINOIN)	640 000	640 000
A	-	-
B 2% LYCOPIN *)	-	12 800 000
*) Exposition: 72 h.		

### 3.1 VERGLEICHSPRÜFUNGEN (FORTSETZUNG)

A TAXOL-W.S., als spontan dispergierbares MARIGENOL®-Konzentrat formuliert, das eine wässrige Ultramikro-emulsion bildet

B TAXOL-W.S., als herkömmliches Konzentrat formuliert, das nur eine wässrige Makro-emulsion bildet

C BACCATIN-III-W.S., als spontan dispergierbares MARIGENOL®-Konzentrat formuliert, das eine wässrige Ultramikro-emulsion bildet

D BACCATIN-III-W.S., als herkömmliches Konzentrat formuliert, das nur eine wässrige Makro-emulsion bildet

GEPRÜFTES KONZENTRAT	MIKRO-MAKRO- EMULSION 1:100	EXPOSITION 24 h, in Verdünnung wirksam bis zu 1:	EXPOSITION 48 h, in Verdünnung wirksam bis zu 1:
mit 1%-WIRKSUBSTANZ	AKTIVSUBSTANZ A.S.		
A: TAXOL-W.S.	EM 1:100 A.S.	128 000 12,8 Mio.	512 000 51,2 Mio.
B: TAXOL-W.S.	EM 1:100 A.S.	< 4000 < 400 000	< 4000 < 400 000
C: BACCATIN-III-W.S.	EM 1:100 A.S.	128 000 12,8 Mio.	256 000 25,6 Mio.
D: BACCATIN-III-W.S.	EM 1:100 A.S.	< 4000 < 400 000	< 4000 < 400 000

Man beachte, dass die erfindungsgetreue Konzentratbildung der herkömmlichen Formulierung weit überlegen ist in der Wirkung. So beträgt deren Bioreaktivität schon in der kurzen Expositionszeit von 24 h das 30-fache und bei 48 h Exposition das über 125-fache des bislang Üblichen und Erreichbaren.

MARIGENOL®-Konzentrate mit C<sub>11:1</sub>-Citronellylester als Coemulgator und mit einer 1:1 Tensid-Mischung Invadin® JFC 800%/Soprophor® FL formuliert. Herkömmlich formulierte Konzentrate mit Isopropylmyristat als Coemulgator und mit Cremophor® EL (BASF) aufgebaut.

In beiden Fällen gleiches anteiliges Verhältnis W.S.: Coemulgator: Tensiden angenommen.

3.2 Die analytische Nachprüfung der unterschiedlichen Formulierungen am Institut für Polymere an der E.T.H. in Zürich ergab die nachfolgenden Messdaten:

	PRÄPARAT	MIZELLGRÖSSE in nm
5	A: TAXOL-W.S.	2.2–2.3 ohne Filter
10	B: TAXOL-W.S.	5–6 60–100 starke Streuung breite Verteilung 10%-Filter
15	C: BACCATIN-III-W.S.	2.2–3.0 ohne Filter, aber 75°
20	D: BACCATIN-III-W.S.	4–12 starke Streuung breite Verteilung 10%-Filter
25	ESTER-VERBINDUNGEN:	
	Q: QUERCETIN-PENTA-UNDECENOAT	2–3
	QE: $\beta$ -OESTRADIOL-DI-OLEAT	2–3
	F: APIGENIN-TRILAUERAT	2–3
	L: GENISTEIN-DILAUERAT	2–3

Gemessen wurde die wässrige Emulsion 1:100 der 1%-igen Konzentrate mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) in je 3 Winkelstellungen, mit je 10 Einzelmessungen, an einem speziell ausgerüsteten «Fiber-optic Spectrometer» des Instituts für Polymere, E.T.H., Zürich. Für die Beschreibung der Methodik und des Gerätes vgl. «Mode-selective dynamic light scattering: theory versus experimental realization». Thomas Gisler et al., Applied Optics/Vol. 34, No. 18/20 June 1995.

#### 4.0. Analytischer Nachweis

##### 4.1 Identifikation von TAXOL-Wirksubstanz

Kapillarzonen-Elektrophorese mit einem Gerät P/ACE 2100 von Beckman Instruments, bzw. einem BioFocus Integrator von BIO-RAD Laboratories.

Bedingungen:

Puffer pH = 7.0

50 mM Na-phosphat

100 mM Borsäure

50 mM SDS

filtriert 0.2  $\mu$ m

Zu 20 ml Puffer werden 5 ml Methanol gegeben. Kapillare: HP bubble cell FS 50  $\mu$ m  $\varnothing$ , 37 cm. Injektion: 20 psi\*sec. Run 15 kV, Messung bei 192 nm. Der Ester peak erscheint nach gut 5 Minuten. Detektionsgrenze 0.5 ppm, sehr hohe Auflösung.

##### 4.2 Identifikation der Konzentrat-Mizellen in der wässrigen Mikroemulsion/bzw. im gereinigten Zellplasma der Tumorzellen.

Gleiche Methodik wie 4.1.

Der charakteristische Peak erscheint nach ca. 6 Minuten.

##### 4.3 Nachweis der Membran-Penetration an der Tumorzelle

Am Lichtmikroskop (wie auch am Elektronenmikroskop) lässt sich aufzeigen, dass wenige Stunden nach der Inkubation (Beispiel Py6-Zellen = Polyoma-Virus transformierte 3T3-Mausfibroblasten; dünn ausgesät, mittlere Verdünnung der Wirkstoff-Konzentrate) sich ein Kranz von Vakuolen um den Zellkern herum ausbildet. Als Markiersubstanz kann dem Konzentrat eine kleine Menge Canthaxanthin beigegeben werden, das eine deutliche Fluoreszenz besitzt.

Der analytische Nachweis, dass diese Vakuolen die Taxol-Wirksubstanz enthalten, erfolgt ebenfalls mittels mizellarer Kapillar-Zonen-Elektrophorese «MECC», (Beckman Instruments, P/ACE System 2100 oder BioFocus von Bio-Rad).

4.4 Kontrolle des Molekulargewichts der Wirksubstanz im gereinigten Zellsaft (nach Diffusion) mittels UV-MALDI-Massenspektroskopie unter Verwendung von Sinapinsäure als Matrix (Trans-3,5-dimethoxy-4-hydroxy-Zimtsäure,  $C_{11}H_{12}O_5$ , Fluka 85 430).

- 5 Vgl. im übrigen: Koji Otsuka et al.: Separation of lipophile compounds by micellar electrokinetic chromatography with organic modifiers, Electrophoresis, 1994, 15, 1280-83 (VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim).

#### 5.0 Verträglichkeit der MARIGENOL®-Präparate

- 10 AUSWIRKUNG auf das BLUTBILD TOXIZITÄT von MARIGENOL®-KONZENTRATEN an der BALB/c-Maus, %-Anteil der Blutkörperchen

15	Präparat	L	M	N	E	B
G 17	$10^{-7}$	$70 \pm 6$	$11 \pm 3$	$13 \pm 4$	$6 \pm 4$	0
	$10^{-5}$	$77 \pm 6$	$6 \pm 3$	$11 \pm 4$	$5 \pm 4$	$1 \pm 1$
	$10^{-3}$	$69 \pm 10$	$7 \pm 5$	$22 \pm 8$	$2 \pm 2$	0
20 G 41	$10^{-7}$	$77 \pm 6$	$6 \pm 3$	$13 \pm 5$	$3 \pm 3$	0
	$10^{-5}$	$78 \pm 4$	$10 \pm 2$	$10 \pm 4$	$1 \pm 1$	$1 \pm 1$
	$10^{-3}$	$80 \pm 6$	$8 \pm 2$	$10 \pm 6$	$12 \pm 1$	0
25 G 44	$10^{-7}$	$74 \pm 17$	$10 \pm 1$	$20 \pm 9$	$1 \pm 1$	0
	$10^{-5}$	$74 \pm 6$	$9 \pm 4$	$14 \pm 7$	$4 \pm 3$	0
	$10^{-3}$	$76 \pm 5$	$6 \pm 4$	$16 \pm 8$	$2 \pm 1$	0
G 55	$10^{-7}$	$78 \pm 4$	$10 \pm 4$	$10 \pm 4$	$2 \pm 1$	0
	$10^{-5}$	$69 \pm 10$	$11 \pm 3$	$18 \pm 4$	$1 \pm 1$	0
	$10^{-3}$	$77 \pm 5$	$6 \pm 4$	$14 \pm 2$	$2 \pm 1$	$1 \pm 1$
30 KONTROLLEN (Phys.Puffer)		$76 \pm 5$	$8 \pm 2$	$15 \pm 4$	$1 \pm 1$	0

G 17 2%-Konzentrat mit  $C_{5:0}$ -iso-CHOLESTERYL-ESTER (Cholesteryl-iso-Valerat)

35 G 41 2%-Konzentrat mit  $C_{11:1}$ -ERGOSTERYL-ESTER (Ergosteryl-10-Undecenoat)

G 44 2%-Konzentrat mit  $C_{18:2}$ -CHOLECALCIFERYL-ESTER ( $C_{18:2}$ -D<sub>3</sub>; Vitamin-D<sub>3</sub>-Linolat)

G 55 2%-Konzentrat mit  $C_{4:1}$ -CHOLECALCIFERYL-ESTER ( $C_{4:1}$ -D<sub>3</sub>; Vitamin-D<sub>3</sub>-Crotonat)

Verdünnungen:

40  $10^{-7}$  = 0,1 ppm Konzentrat; 0,002 ppm Wirksubstanz

$10^{-5}$  = 10 ppm Konzentrat; 0,200 ppm Wirksubstanz

$10^{-3}$  = 1000 ppm Konzentrat; 20,000 ppm Wirksubstanz

(auf die wässrige Mikroemulsion berechnet)

Legende:

45 L = Lymphocyten

M = Monocyten (Makrophagen)

N = Neutrophile Granulocyten

E = Eosinophile Granulocyten

B = Basophile Granulocyten

- 50 Durchführung der Proben: Prof. Dott. Guido FORNI, Dott<sup>a</sup> Stefania VAI, Università di Torino, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Ospedale San Luigi Gonzaga, I-10 043 ORBASSANO (TO), August/September 1993.

- 55 Test mit normalen 8-wöchigen weiblichen BALB/c nAncr (H-2d)-Mäusen, geliefert von Charles River Laboratories, Calco (Italien). Während 4 Wochen täglich zweimalige Injektion i.v. von je 0,250 ml wässriger Mikroemulsion, gebildet aus den angegebenen Konzentraten, bzw. mit physiologischem Puffer für die Kontrollen. Färbung mit May Grünwald-Giemsa.

Zeit der Behandlung: 28 Tg.

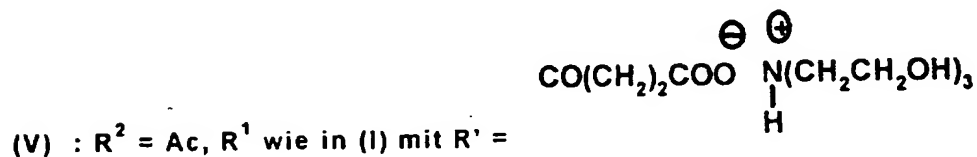
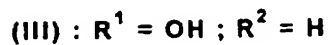
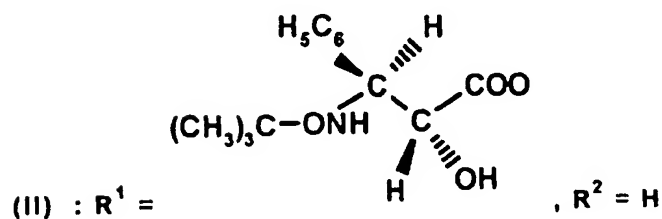
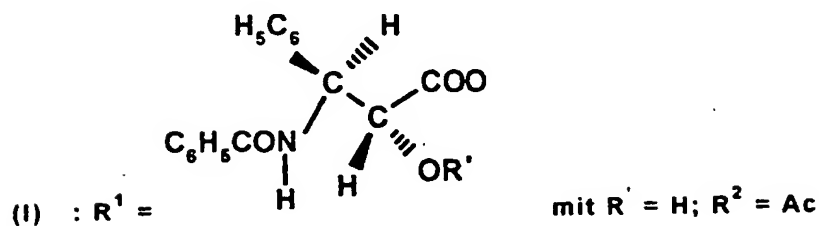
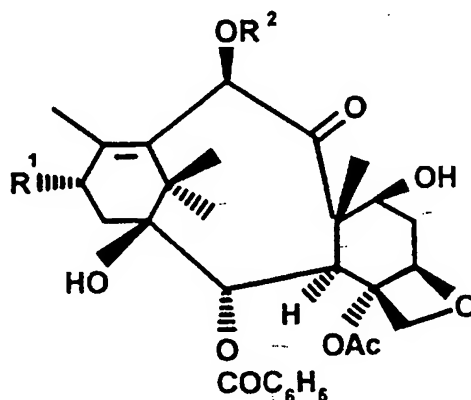
Blutanalyse: nach der letzten Injektion

Anzahl Tiere: 13 Gruppen zu je 5 Tieren

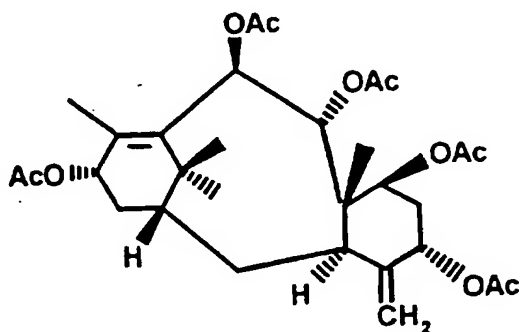
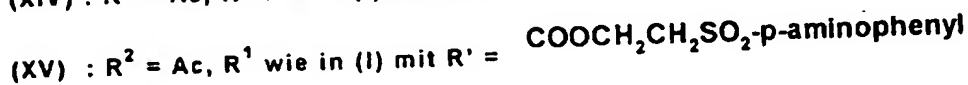
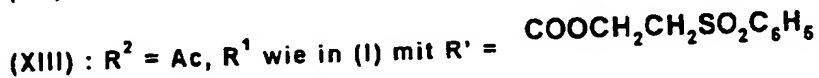
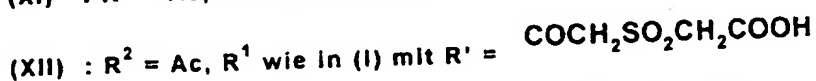
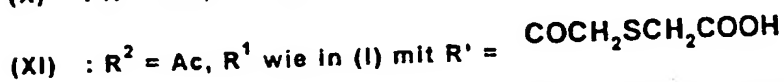
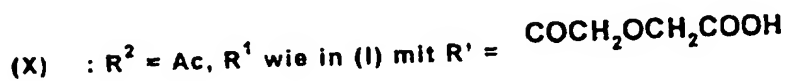
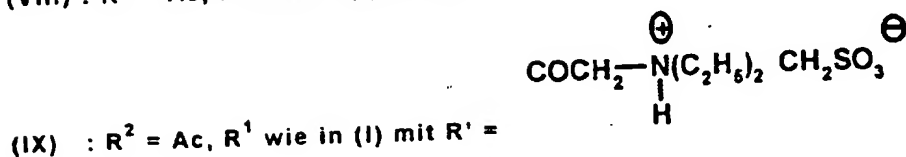
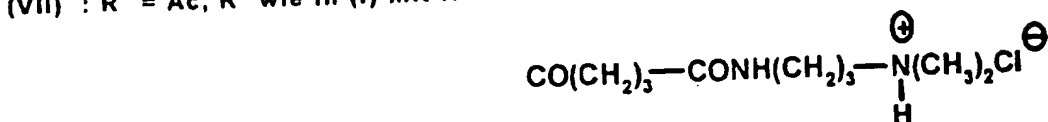
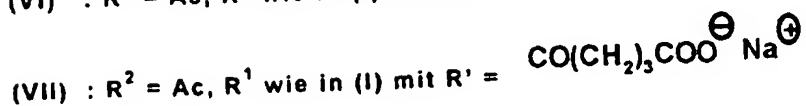
- 60 RESULTAT: Es treten keine signifikanten Unterschiede auf zu den Kontrollen. Es konnte keine Toxizität der Konzentrate auf die Leukozyten-Population festgestellt werden. Auch die Erythrozyten-Population zeigte normale Werte. Alle Tiere waren und blieben gesund bis zum Schluss der Versuche.

# Patentansprüche

1. Spontan dispergierbares Konzentrat, welches mit Wasser, mit 5%-iger Glucoselösung oder mit Ringerlösung verdünnt thermodynamisch stabile Ultramikroemulsionen ergibt, die Mizellen mit einem hydrodynamischen Radius von 2.2 bis 3.0 nm aufweisen, dadurch bestimmt, dass es aus folgenden Komponenten besteht:  
0,5 bis 5 Gew.-% eines Wirkstoffes laut den Formeln (I) bis (XVIII), bzw. einer Kombination solcher Wirkstoffe:





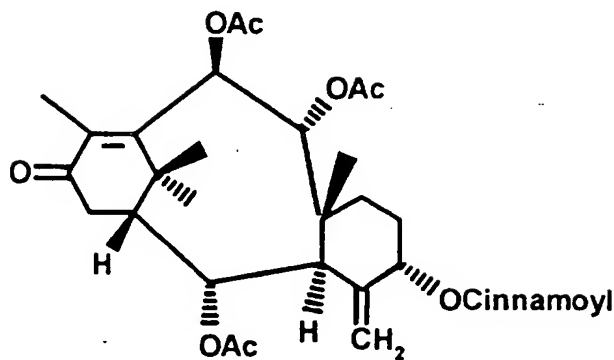


5

10

15

(XVII) :

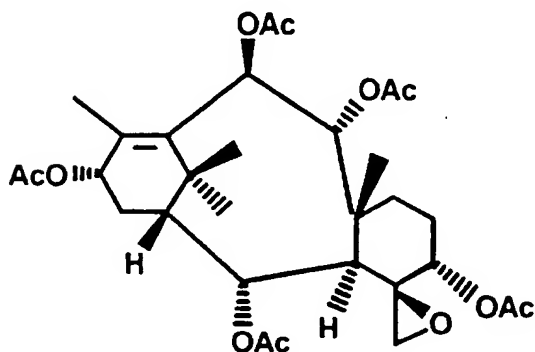


20

25

30

(XVIII) :



5 bis 25 Gew.-% eines als Hydrotrop, d.h. Coemulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches,

35 5 bis 90 Gew.-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches,

und wahlweise 0 bis 10 Gew.-% eines Vitamins oder Provitamins, sowie

0 bis 10 Gew.-% eines Stabilisators, Radikalfängers oder Penetrationsverbessers.

2. Ein pharmazeutisch verwendbares Kombinationspräparat, das aus 90 Gew.-% des spontan dispergierbaren Konzentrates gemäss Anspruch 1 und 10 Gew.-% pharmaverträglichen Trägerstoffen und/oder Verdünnungsmitteln besteht.

40 3. Spontan dispergierbares Konzentrat, enthaltend Taxol oder Taxolanaloge Verbindungen der Formeln (I) bis (XVIII) gemäss Anspruch 1, als Mittel zur Herstellung eines pharmazeutischen Präparates mit erhöhter und gut verträglicher Wirksamkeit gegen Tumore, Ekzeme und Psoriasis.

4. Spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 1, bestehend aus folgenden konstitutiven Komponenten:

45 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),

9,5 bis 25 Gew.-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Neutralöl (Oleum neutrale), oder eines oder mehrerer biotensider Terpinylester der allgemeinen Formel (XIX):

50  $R^2-COO-R^3$  (XIX)

worin  $R^2$  eine  $C_{2-31}$ -Alkyl-, eine  $C_{3-31}$ -Alkenyl- oder eine  $C_{3-31}$ -Alkapolyengruppe ist und  $R^3$  Citronellyl-, Farnesyl-, Geranyl-, Isophytyl- oder Phytyl- bedeutet,

30 bis 45 Gew.-% eines Phosphorsäureester-Tensides,

55 30 bis 45 Gew.-% des wasserfreien tert. Octylphenylpolyoxyäthylen Ethers mit 9 bis 10 Oxyäthylen Gruppen.

5. Spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 1, bestehend aus folgenden konstitutiven Komponenten:

60 0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),

5 bis 25 Gew.-% eines oder mehrerer biotensider Terpinylester der allgemeinen Formel (XIX):

$R^2-COO-R^3$  (XIX)

65 worin  $R^2$  eine  $C_{2-31}$ -Alkyl-, eine  $C_{3-31}$ -Alkenyl- oder eine  $C_{3-31}$ -Alkapolyengruppe ist und  $R^3$  Citronellyl-, Farnesyl-, Geranyl-, Isophytyl- oder Phytyl- bedeutet,

30 bis 45 Gew.-% des wasserfreien tert. Octylphenylpolyoxyethylen Ethers mit 9 bis 10 Oxyethylen Gruppen und/oder Polyoxyethylen-Sorbitan-Monolaurat und/oder Polyethylenglykol-20 Methylglucose Sesquisteat.

30 bis 45 Gew.-% eines Alkylphenol Polyglykoether Phosphat-Tensides oder des Tristyrylphenol-polyoxyethylen-18-phosphorsäureester-triethylaminsalz-Tensides.

6. Spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es folgende konstitutiven Komponenten umfasst:

0,5 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII),

5 bis 25 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol und/oder Dimethylsulfoxid getrocknet (DMSO),

bis zu 40 Gew.-% Polyoxyethylen-Sorbitan-Monolaurat (Polysorbate 20) oder Polyoxyethylen-Sorbitan-Monooleat und/oder Polyethylenglykol-20 Methylglucose Sesquisteat,

bis zu 60 Gew.-% des Tristyrylphenol-polyoxyethylen-18-phosphorsäureester-triethylaminsalz-Tensides.

7. Spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 1, dadurch bestimmt, dass darin folgende Bestandteile integriert sind:

1 bis 5 Gew.-% eines oder mehrerer Wirkstoffe der Formeln (I) bis (XVIII), 10 bis 25 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol,

25 Gew.-% Polyoxyethylen-Sorbitan-Monolaurat oder Polyoxyethylen-Sorbitan-Monooleat,

0 bis 15 Gew.-% des wasserfreien tert. Octylphenylpolyoxyethylen Ethers mit 9 bis 10 Oxyethylen Gruppen,

bis zu 50 Gew.-% des Tristyrylphenol-polyoxyethylen-18-phosphorsäureester-triethylaminsalz-Tensides.

8. Spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 1, bestehend aus den folgenden konstitutiven Komponenten:

0,5 bis 4 Gew.-% des Wirkstoffes laut Formel (I),

3 bis 12 Gew.-% Ethylalkohol oder 2-Pentanol und/oder Dimethylsulfoxid getrocknet (DMSO),

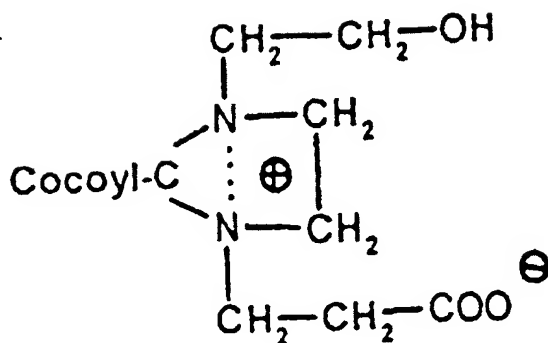
16 Gew.-% Citronellyl-10-Undecenoat oder Citronellyl-Laurat,

34 bis 40 Gew.-% des wasserfreien, tert. Octylphenylpolyoxyethylen Ethers mit 9 bis 10 Oxyethylen Gruppen,

34 bis 40 Gew.-% des Tristyrylphenol-polyoxyethylen-18-phosphorsäureester-triethylaminsalz-Tensides.

9. Therapeutisches Systempräparat, das bis zu 90 Gew.-% aus dem spontan dispergierbaren Konzentrat gemäss einem der Ansprüche 1 oder 4 bis 8, sowie zu mindestens 10 Gew.-% aus pharmaverträglichen Trägerstoffen, Zusatzstoffen, oder einem Lösungsmittel hergestellt ist, und das in Dosis-Einheitsform als Micropellets, Granulat, Dragees, Suppositorien, Ampullen oder als Kapseln vorliegt.

10. Die Verwendung des spontan dispergierbaren Konzentrates gemäss Anspruch 1 und daraus aufbereiteter wässriger Ultramikroemulsionen als Mittel zur Herstellung eines pharmazeutischen Systempräparates mit erhöhter und gut verträglicher Wirksamkeit gegen Tumore, Ekzeme und Psoriasis.



with delocaliser  
[+]- Charge

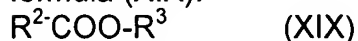
Amphonyl CA-AA (CHEMAG).

[Page 9 line 49 to Page 10 line 59]

COMPOSITION EXAMPLES according to invention dispersible CONCENTRATIONS, which contain the active agents of formulas (I) to (XVIII) and which, when they are diluted with water, 5% glucose solution or physiological saline solution, form thermodynamically stable ULTRA MICROEMULSIONS, which feature micelles with a hydrodynamic radius of 2.2 to 3.0 nm.

a) 0,5 to 5 weight - % of one or more active agents of formulas (I) to (XVIII).  
5 to 25 weight - % isopropylmyristate, isopropylpalmitate or neutral oil such as Miglyol® 812 (Dynamit Nobel).  
0 to 45 weight - % of a Phosphoric acid ester tensides such as Diphasol® 3873 (CIBA-GEIGY), Tensid 508® (CIBA-GEIGY), Zerostat® AN or AT (CIBA-GEIGY), Tinovetin® JU (CIBA-GEIGY), Soprophor® FL (RHONE-POULENC).  
5 to 90 weight - % Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY) and/or TWEEN®-20 (ICI Specialty Chemicals).

b) 0,5 to 5 weight - % of one or more active agents of formulas (I) to (XVIII),  
9,5 to 25 weight - % of one or more bio-tenside Terpinyl esters of the general formula (XIX):



Where  $R^2$  signifies a  $C_{2-31}$ -Alkyl, and/or a  $C_{3-31}$ -Alkenyl or Alkapoly group and  $R^3$  Citronellyl-, Farnesyl-, Geranyl-, Isophytyl- or Phytyl-.

30 to 45 weight - % Invadin® JFC 800% and/or TWEEN®-20 and/or TWEEN®-80 and/or Glucamate® SSE-20 (AMERICHOL),  
30 to 45 weight - % Soprophor® FL.

EV 639015271 US

c) 0,5 to 5 weight - % one or more active agents of formulas (I) to (XVIII).  
 5 to 25 weight - % ethyl alcohol or 2-Pentanol.  
 0 to 5 weight - % DMSO dried.  
 Up to 40 weight - % TWEEN®-20 or TWEEN®-80 and/or Glucamate® SSE-20.  
 Up to 60 weight - % Soprophor® FL.

d) 1 to 5 weight - % weight one or more active agents of formulas (I) to (XVIII).

10 to 25 weight - % ethyl alcohol or 2-Pentanol.  
 25 weight - % TWEEN®-20 and/or TWEEN®-80.  
 0 to 15 weight - % Invadin® JFC 800%.  
 Up to 50 weight - % Soprophor® FL.

e) 0,5 to 4 weight - % of the active agents according to formula (I).  
 3 to 12 weight - % ethyl alcohol or 2-Pentanol and/or DMSO dried.  
 16 weight - % Citronellyl-10-Undecenoat (C<sub>11</sub>:1-Citronellylester) or Citronellyl-Laurate (C<sub>12:0</sub>-Citronellylester).  
 34 to 40 weight - % Invadin® JFC 800%,  
 34 to 40 weight - % Soprophor® FL.

N.B.: INVADIN® JFC 800% (CIBA-GEIGY) is a water-free tertiary Octylphenylpolyoxyethylene ether with 9 to 10 Oxyethylene groups. TWEEN®-20 (ICI Speciality Chemicals) is the trademark for the Polyoxyethylene-(20)-sorbitane monolaurate, TWEEN®-80 for the Polyoxyethylene-(20)-sorbitane monooleate. CTFA classification as Polysorbate 20, and/ or 80, [Merck-Index 11.7559]. Glucamate® SSE-20 (AMERCHOL) is the trademark for Polyethylene glycol-20 Methyl Glucose Sesquistearate according to CTFA classification.

EXAMPLE for the pharmaceutical production of a System compound with concentrations in the form of "multiple units" according to invention.

---

a) Granulation

---

Metolose® 90 SH-4000 (Shin-Etsu Chemical)	90.0 g
Avicel® PH-101	80.3 g
Invention accurate CONCENTRATE	139.4 g
Aerosil® 200	80.3 g
Σ	390.0 g

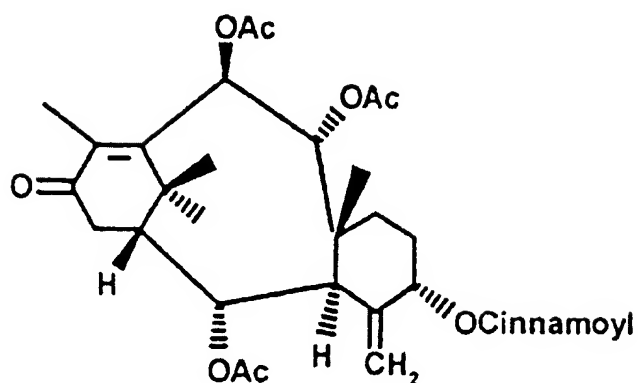
---

Granulate/form in fast mixer or in rotation bed with 110 g Ethanol, break up, sift using 18 to 42 mesh, dry for 24 hrs at 40°C.

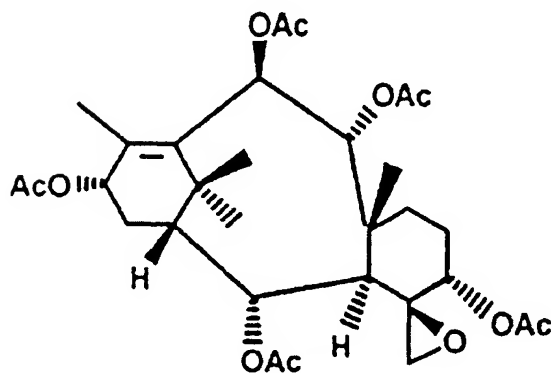
b) MSR- and RETARD- equipment in rotation bed with AQQAT® AS-HG (Shin-Etsu Chemical) and talc.

c) Composition of finished granulate and/or micro pellets	
Core material	44%
Invention accurate CONCENTRATE	25%
MSR layer	31%
$\Sigma$	100%

N.B.: MSR = Gastric Juice Resistance. The pellets/granulates in accordance with a) can also be deposited without coating into the capsules, which are produced from AQQAT® (HPMC-AS-M or HPMC-AS-N) and closed with acetone/ethanol 1:1 and therefore appropriately control the functions of the MSR and the delayed delivery (Slow Release, Retard).



(XVII) :



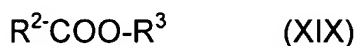
(XVIII) :

[Page 18 line 44 to Page 19 line 28]

4. Spontaneously dispersible concentrate according to Claim 1, consisting of the following constituent components:

0,5 to 5 weight - % of one or more active agents of formulas (I) to (XVIII).

9,5 to 25 weight - % Isopropyl myristate, isopropyl palmitate or neutral oil (Oleum neutrale), or one or more bio-tenside terpinyl esters of the general formula (XIX):



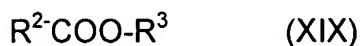
Where  $R^2$  signifies a  $C_{2-31}$ -Alkyl, a  $C_{3-31}$ -Alkenyl- or a  $C_{3-31}$ -Alkapoly group and  $R^3$  signifies Citronellyl-, Farnesyl-, Geranyl-, Isophytyl- or Phytyl-.

30 to 45 weight - % of a Phosphoric acid ester tenside.

30 to 45 weight - % of a water free tertiary Octylphenylpolyoxyethylene ether with 9 to 10 Oxyethylene groups.

5. Spontaneously dispersible concentrate according to Claim 1, consisting of the following constituent components:

0,5 to 5 weight - % of one or more active agents of formulas (I) to (XVIII).  
5 to 25 weight - % of one or more bio-tenside terpinyl esters of the general formula (XIX):



Where  $R^2$  signifies a  $C_{2-31}$ -Alkyl, a  $C_{3-31}$ -Alkenyl- or a  $C_{3-31}$ -Alkapoly group and  $R^3$  signifies Citronellyl-, Farnesyl-, Geranyl-, Isophetyl- or Phetyl-.

30 to 45 weight - % of water free tertiary Octylphenylpolyoxyethylene ethers with 9 to 10 Oxyethylene groups and/or Polyoxyethylene sorbitane monolaurate and/or Polyethylene glycol-20 Methyl glucose sesquisteate.  
30 to 45 weight - % of an Alkylphenol polyglycol ether phosphate tensides or the Tristyrylphenol polyoxyethylene-18 phosphoric acid ester triethyl amino salic tensides.

6. Spontaneously dispersible concentrate according to Claim 1, thus labeled, so that it contains the following constitutive components:

0,5 to 5 weight - % one or more of the active agents of formulas (I) to (XVIII).

5 to 25 weight - % Ethyl alcohol or 2-Pentanol and/or Dimethylsulfoxide dried (DMSO).

Up to 40 weight - % Polyethylene sorbitane monolaurate (Polysorbate 20) or Polyoxyethylene sorbitane monooleate and/or Polyethylene glycol-20 methyl glucose sesquisteate.

Up to 60 weight - % of the Tristyrylphenol polyoxyethylene-18 phosphoric acid ester triethyl amino salic tensides.

7. Spontaneously dispersible concentrate according to Claim 1, thus determined, as then the following components will be ignored:

1 to 5 weight - % of one or more of the active agents of the formulas (I) to (XVIII).

10 to 25 weight - % Ethyl alcohol or 2-Pentanol.

25 weight - % Polyoxyethylene sorbitane monolaurate or Polyoxyethylene sorbitane monooleate.

0 to 15 weight - % of water free tertiary Octylphenylpolyoxyethylene ethers with 9 to 10 Oxyethylene groups.

Up to 50 weight - % of the Tristyrylphenol polyoxyethylene-18 phosphoric acid ester triethyl amino salic tensides.

8. Spontaneously dispersible concentrate according to Claim 1, consisting of the following constituent components:

0,5 to 4 weight - % of the active agents according to formula (I).

3 to 12 weight - % Ethyl alcohol or 2-Pentanol and/or Dimethylsulfoxide dried (DMSO).

16 weight - % Citronellyl-10-undecenoate or citronellyl laureate.

34 to 40 weight - % of water free tertiary Octylphenylpolyoxyethylene ethers with 9 to 10 Oxyethylene groups.

34 to 40 weight - % of the Tristyrylphenol polyoxyethylene-18 phosphoric acid ester triethyl amino salic tensides.